Литература

1. Болезнь Ауески: дифференциация инфицированных и вакцинированных животных методом блокирующего ИФА на основе моноклональных антител / О.С. Моренков, Ю.А. Собко, В.А. Сергеев [и др.] // Вирусн. болезни с.-х. ж-ных: тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. Владимир, 1995. С. 211.
2. Болезнь Ауески свиней. Современная эпизоотическая ситуация и меры борьбы / А.А. Коломыцев, И.В. Амирова, А.А. Стрижаков [и др.] // Ветеринарный консультант. 2007. №13. С.7-10.
3. Оценка эффективности различных методов концентрирования вируса болезни Ауески / Ж.Б. Кандыбаева, Л.В. Маликова, Б.Н. Хайруллин // Акт. пробл. вирус.: тез. докл. науч. конф. п. Гвардейский, 1994. Ч. 1. С.62.
4. Применение дифференцирующего ИФА при болезни Ауески свиней / О.П. Бъядовская, О.Г. Андреева, А.С. Оганесян [и др.] // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. Владимир, 2006. Т. 4. С. 225–232.
5. Получение и оценка диагностических сывороток и иммуноглобулинов к вирусу болезни Ауески / Г.А. Блотова, В.И. Диев, А.В. Константинов [и др.] // Акт. пробл. инфекц. пат. ж-ных: мат. Междунар. науч. конф., посв. 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ». Владимир, 2003. С. 203–208.
5. Теория и практика иммуноферментного анализа / А.М. Егоров, А.П. Осипов, Б.Б. Дзантиев, Е.М. Гаврилова. М.: Высш. шк., 1991. 288 с.
6. Усовершенствование технологии изготовления вакцин против болезни Ауески из маркированного штамма «ВК» / Т.И. Корпусова, В.А. Мищенко, А.П. Пономарев [и др.] // Вет. патология
7. Экологические особенности вируса болезни Ауески / А.В. Мищенко, Н.А. Яременко, В.М. Захаров [и др.] // Болезнь Ауески свиней: сб. науч. работ. Владимир, 2001. С. 43–45.
8. Pseudorabies virus mutants, vaccines containing same, methods for the production of same and methods for the use same: US Patent № 4,711,850. Malon Kit, Saul Kit, p. 6-7.

УДК 619:616.98:579.843.96:636.4

Д.А. Бирюченков, В.С. Русалеев, А.А. Фроловцева

КЛИНИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АКТИНОБАЦИЛЛЕЗНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИИ СВИНЕЙ

Введение

Актинобациллезная плевропневмония свиней – инфекционное контагиозное заболевание свиней, характеризующееся септикотоксемией, геморрагической и гнойно-некротизирующей пневмонией, а также серозно-фибринозным плевритом, перикардитом и артритами. Заболевание вызывают бактерии семейства *Pasteurellaceae*, рода *Actinobacillus*, вида *A. pleuropneumoniae*. Заболеванию наиболее подвержены поросята 2-4-месячного возраста.

Данное заболевание свиней широко распространено в мире, особенно в странах с развитым свиноводством [2, 4]. В Российской Федерации болезнь была впервые диагностирована М. Сидоровым и М. Скородумовым в 1975 году [1, 9].

Возбудитель актинобациллезной плевропневмонии – гемофильные бактерии *Actinobacillus pleuropneumoniae* – мелкие (0,3-0,4x0,4-0,5 мкм), грамотрицательные, неподвижные палочки или коккобактерии. Спор не образуют. Вирулентные штаммы имеют капсулу. Обладают выраженным тропизмом к легочной ткани [1, 5].

Отсутствие общепризнанной методики определения вирулентности бактерий *Actinobacillus pleuropneumoniae* затрудняет работу по отбору патогенных штаммов, необходимых для изготовления инактивированных вакцинных препаратов против данного заболевания. Это обстоятельство побудило нас сопоставить различные методы экспериментального воспроизведения актинобациллезной плевропневмонии у поросят.

Из-за скудности информации в отечественной печати об этой инфекции практические ветеринарные специалисты мало знакомы с актинобациллезной плевропневмонией свиней, поэтому публикация материалов о ней вполне обоснована.

Материалы и методы

В работе использовали штамм *A. pleuropneumoniae* «Ш-1», хранящийся в лаборатории микробиологии ФГУ «ВНИИЗЖ». Бактериальную массу актинобацилл получали выращиванием в течение 16-18 часов на поверхности сывороточно-дрожжевого агара, приготовленного на основе бульона по Хоттингеру. Агаровую культуру возбудителя смывали стерильным фосфатно-буферным раствором с pH

Таблица

Результаты заражения поросят *Actinobacillus pleuropneumoniae* штаммом «Ш-1»

№ п/п	Метод зараже-ния	Кол-во м.к./ в дозе ($x10^9$)	Форма заболевания и исход	Результаты обследования легких	Характерное поражение конечностей
1	и/в[1]	2	острая	геморрагии	поражение суставов
2	и/в	2	острая, гибель4	геморрагии	не обнаружено
3	и/в	1	кл. здоров5	патология не выявлена6	не обнаружено
4	и/в	1	кл. здоров	патология не выявлена	не обнаружено
5	и/в	0,5	кл. здоров	патология не выявлена	не обнаружено
6	и/в	0,5	кл. здоров	патология не выявлена	не обнаружено
7	и/т[2]	10	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
8	и/т	10	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
9	и/т	5	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
10	и/т	5	острая, гибель	геморрагии	не обнаружено
11	и/т	1	острая, гибель	геморрагии	поражение суставов
12	и/т	1	острая, гибель	геморрагии	поражение суставов
13	и/т	0,5	хроническая форма болезни	геморрагии	поражение суставов
14	и/т	0,5	хроническая	геморрагии	не обнаружено
15	и/н[3]	10	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
16	и/н	10	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
17	и/н	5	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
18	и/н	5	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
19	и/н	1	сверхострая, гибель	обширные геморрагии	не обнаружено
20	и/н	1	острая, гибель	обширные геморрагии	поражение суставов
21	и/н	0,5	хроническая	геморрагии	поражение суставов
22	и/н	0,5	хроническая	геморрагии	поражение суставов
23	конт-роль	-7	кл. здоров	патология не выявлена	не обнаружено
24	конт-роль	-	кл. здоров	патология не выявлена	не обнаружено

1 - (и/в) - интравенозный способ заражения;
2 - (и/т) - интратрахеальный способ заражения;
3 - (и/н) - интраназальный способ заражения;
4 - (гибель) – гибель животного сопровождалась характерными для данного заболевания клиническими и патологоанатомическими признаками;
5 - (кл. здоров) - клинические признаки заболевания не были выявлены;
6 - (патология не выявлена) - признаки заболевания проявлялись в стертой форме без видимых изменений;
7 - (-) подопытные животные заражению не подвергались

7,2-7,4. Концентрацию микробных клеток в суспензии определяли по оптическому стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича, а количество живых микробных клеток устанавливали методом титрования на плотной питательной среде и выражали в колониеобразующих единицах.

Клинико-анатомические особенности экспериментальной актинобациллезной плевропневмонии были изучены на поросятах 30–35-дневного возраста массой 8-9 кг, которые размещались в изолированном боксе с контролируемым температурным режимом и вентиляцией, на бетонном полу, со свободным доступом к воде и сухим типом кормления (специализированный комбинированный корм для свиней). Наличие специфических антител в сыворотках крови переболевших свиней определяли в реакции агглютинации [7]. Наблюдение за подопытными животными проводилось ежедневно в течение 22 дней: утром и вечером.

Результаты и обсуждение

При экспериментальном заражении восприимчивых животных изолятом «Ш-1» возбудителя актинобациллезной плевропневмонии была воспроизведена клиническая картина и получены патологоанатомические изменения, характерные для естественного течения болезни. В ходе опытов были отработаны три способа

заражения: интравенозное, интратрахеальное и интраназальное [3, 6, 8]. Объем вводимой дозы на одно животное составлял 1, 5 и 2 см^3, соответственно. При интраназальном заражении для подавления кашлевого рефлекса и понижения эффекта сглатывания использовали 2% раствор лидокаина в дозе 2 см^3 на животное. Каждая заражающая доза инъецировалась двум животным. Данные по результатам заражения представлены в таблице.

Интравенозное введение оказалось малоэффективным. Характерную для актинобациллезной плевропневмонии клиническую и патологоанатомическую картину, а также гибель поросят удалось воспроизвести только при заражающей дозе 2х10^9 м. к. Гибель лишь одного из зараженных животных подтверждает гипотезу о низком уровне диссеминации *Actinobacillus pleuropneumoniae* в крови. Отсутствие специального оборудования для фиксации животных, возможности подавления рефлекса сглатывания при интратрахеальном введении вело к попаданию части культуральной суспензии в желудок, травмированию кровеносных сосудов шеи, пищевода и трахеи подопытных поросят. Интраназальное заражение культурой штамма «Ш-1» *Actinobacillus pleuropneumoniae* в дозе 0,5х10^9 м.к. с предварительной обработкой поросят 2% раствором лидокаина приводило к развитию изменений, характерных для актинобациллезной плевропневмонии свиней.

Проведенные нами наблюдения за экспериментально зараженными поросятами показали, что актинобациллезная плевропневмония свиней протекает в трех клинических формах: сверхострой, острой и хронической.

При сверхостром течении у животных резко повышалась температура тела до 42° С. Поросята были сильно угнетены, дыхание частое и затрудненное, наблюдалась рвота; кожа ушей, пятачка и живота имела сине-красное окрашивание. В агональной стадии отмечали истечение из носовых отверстий пенистой кровянистой жидкости.

Смерть наступала в течение 8-24 часов после появления первых клинических признаков болезни.

При вскрытии трупов наблюдали геморрагическое воспаление легких с выраженным отеком интерстициальной соединительной ткани. Указанный признак находил свое отражение в описании другими исследователями [2, 3, 4, 7, 9, 10] патологоанатомических изменений, вызванных *A. pleuropneumoniae*. Пораженные участки легких были плотной консистенции, вишнево-красного цвета, выступали над поверхностью окружающей нормальной ткани, при надавливании с поверхности разреза стекала кровянистая жидкость. У павших животных фиксировали скопление жидкости темно-красного цвета в грудной полости в объеме до 200 мл, которая, по литературным данным, может иметь в своем составе фибрин [7]. У поросят, зараженных интратрахеально и интраназально, были выявлены фибринозный плеврит и перикардит, а также серозно-геморрагическое воспаление бронхиальных и средостенных лимфатических узлов. Было отмечено незначительное увеличение селезенки.

При острой форме болезни у свиней наблюдали повышение температуры тела до 41° С, одышку, приступы изнурительного кашля, пенистые истечения из носа. Животные погибали с симптомами асфиксии в течение 2-5 суток. При переходе заболевания в хроническую форму у некоторых животных отмечали появление отечности тканей вокруг суставов, преимущественно дистальных отделов конечностей.

Хроническое течение актинобациллезной плевропневмонии проявлялось в виде кратковременного (3-5 дней) повышения температуры тела, кашля, учащенного дыхания брюшного типа, бледности кожных покровов, отставания в росте и развитии.

На вскрытии трупов наблюдали лобарное, чаще одностороннее геморрагическое воспаление легких с выраженным отеком интерстициальной соединительной ткани. Пораженные участки легких были плотные, вишнево-красного цвета, выступали над поверхностью окружающей нормальной ткани, при надавливании с поверхности разреза стекала кровянистая жидкость. Отмечали признаки фибринозного плеврита и перикардита, а также серозно-геморрагического воспаления лимфатических узлов.

При хроническом течении болезни патологоанатомические изменения проявлялись наличием инкапсулированных очагов некроза в легких, несколько выступающих над неповрежденными областями, фибринозным плевритом и перикардитом, спайками между легочной и костальной плеврой, а также скоплением в грудной полости небольшого количества мутноватой жидкости с примесью крови. Полученные данные согласуются с материалами исследований других авторов [7].

У павших и вынужденно убитых животных установлены различной величины

отечности и периартикулярные воспалительные очаги в области дистальных суставов конечностей, которые регистрировали у живых поросят через 5-7 суток после заражения. Зарубежные авторы трактовали подобные патологоанатомические изменения как артриты [10] и периартриты [7]. Кроме того, существуют упоминания об абсцессах, часто локализовавшихся возле суставов [11]. Внешне измененные суставы сохраняли функциональную способность и в большинстве случаев не были повреждены.

При проведении вивисекции для бактериологического исследования от всех животных были взяты образцы патологического материала, включая пробы суставной жидкости и околосуставных очагов воспаления. Выделение возбудителя из патологического материала и его идентификация в совокупности с положительными результатами заражения лабораторных животных явились прямым доказательством роли штамма «Ш-1» *Actinobacillus pleuropneumoniae* в возникновении болезни у свиней.

Анализ приведенных данных свидетельствует о том, что заболевание свиней протекает в трех клинических формах. Величина заражающей дозы существенно влияет на течение и исход заболевания. Наиболее ярко патоморфологическая картина, типичная для актинобациллезной плевропневмонии, проявляется при интратрахеальном и интраназальном способах заражения.

Выводы

Результаты исследований показали, что наиболее удобным способом заражения свиней для воспроизводства актинобациллезной плевропневмонии является интраназальный метод.

Установлено, что актинобациллезная плевропневмония свиней протекает в трех клинических формах: сверхострой, острой и хронической, характеризующихся поражением органов дыхания. Основными патологоанатомическими изменениями у свиней при актинобациллезной плевропневмонии являются геморрагическое воспаление легких, фибринозный плеврит, перикардит, а также скопление кровянистой жидкости в грудной полости. При хроническом течении у большинства трупов в легких находят инкапсулированные очаги некроза.

РЕЗЮМЕ

В работе представлен материал по изучению клинических и патологоанатомических особенностей экспериментальной актинобациллезной плевропневмонии свиней. Животных заражали интравенозно, интратрахеально и интраназально. Типичную картину болезни удалось воспроизвести при всех способах заражения. Инкубационный период составлял 6-24 часа. Проведенные наблюдения за экспериментально зараженными поросятами показали, что данное заболевание свиней протекает в трех клинических формах: сверхострой, острой и хронической. При вскрытии трупов наблюдают геморрагическое воспаление легких, фибринозный плеврит и перикардит, а также скопление кровянистой жидкости в грудной полости. При хроническом течении у большинства трупов в легких находили инкапсулированные очаги некроза. Из проб внутренних органов павших и вынужденно убитых животных выделили культуру *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

SUMMARY

Data on studying clinical and pathologianatomic peculiarities of experimental *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pigs are shown in the paper. Animals were inoculated intravenously, intratracheally and intranasally. A typical disease pattern was successfully reproduced using all infection routes. The incubation period was 6-24 hours. Our observations of experimentally infected pigs showed that the disease had three clinical forms: superacute, acute and chronic. Hemorrhagic pneumonia, fibrinous pleurisy and pericarditis, as well as accumulation of bloody fluid in the respiratory cavity were observed at necropsy. In case of a chronic disease most carcasses showed encapsulated necrosis foci in the lungs. *Actinobacillus pleuropneumoniae* culture, used for inoculation, was isolated from viscera samples of dead and emergency slaughtered animals.

Литература

1. Сидоров, М.А. Гемофилезы животных / М.А. Сидоров, Д.И. Скородумов. М.: Агропромиздат, 1986. С. 29-31.
2. Sebunya, T. N. K. Haemophilus pleuropneumoniae infection in swine: a review / T. N. K. Sebunya, J. R. Saunders // J. Am Vet. Med. Assoc. 1983. Vol. 182. P. 1331-1337.
3. Dom, P. In vivo association of Actinobacillus pleuropneumoniae serotype 2 with the respiratory epithelium of pigs / P. Dom, F. Haesebrouck, R. Ducatelle, G. Charlier // Infect. Immun. 1994. Vol. 62. P. 1262–1267.
4. Maccines, J. I. Actinobacillus and Haemophilus. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals ed.: C. L. Gyles, C. O. Thoen, / J. I. Maccines, N. L. Smart. Ames: Iowa State University Press. 1993. Vol. 1. P. 188–200.
4. Sidibй, M. Detection of Actinobacillus pleuropneumoniae in the porcine upper respiratory tract as a complement to serological tests / M. Sidibй, S. Messier, S. Larivиre et al. //Can. J. Vet. Res. 1993. Vol. 57. P. 204–208.
5. Lechtenberg, K. F. Characterization of an Actinobacillus pleuropneumoniae seeder pig challenge-exposure model / K. F. Lechtenberg, T. R. Scryock, G. Moore // Am. J. Res. 1994. Vol. 55, №. 12. P. 201-209.
6. Janetshke, P. Beitrag zur experimentellen Haemophyilusinfektion (Haemophyilus paragemolyticus, Haemophyilus parasuis) bei SPF-Ferkeln / P. Janetshke, P. Kielstein, W. Schonherr et al. // Arch. Exp. Vet. Med. 1977. Vol. 3. P. 347-357.

7. Rosendal, S. Comparative virulence of porcine Haemophyilus bacteria / S. Rosendal, D.A. Boyd, K.A. Gilbride // Can. J. Comp. Med. 1985. Vol. 49. P. 68-74.
8. Болезни свиней / В.А. Сидоркин, В.Г. Гавриш, А.В. Егунова, С.П. Убираев. М.: Аквариум-принт, 2007. С. 385-388.
9. Udeze, F.A. Role of Haemophilus pleuropneumoniae lipopolisacharide endotoxin in the pathogenesis of porcine Haemophilus pleuropneumonia / F.A. Udeze, K.S. Latimer, S. Kadis // J. Am Vet. Med. Assoc. 1987. Vol. 48, №. 5. P. 768-773.

УДК 619:579.843.96:615.371

Д.А. Бирюченков, В.С. Русалеев, А.П. Пономарев

ИНАКТИВАЦИЯ *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* ФОРМАЛЬДЕГИДОМ

Введение

Actinobacillus pleuropneumoniae является возбудителем актинобациллезной плевропневмонии свиней – инфекционного контагиозного заболевания, характеризующегося септикотоксемией, геморрагической и гнойно-некротизирующей пневмонией, а также серозно-фибринозным плевритом, перикардитом и артритами. Заболевание распространено на территории РФ, что создает необходимость его специфической профилактики [7]. При создании инактивированных антибактериальных вакцин главной задачей является получение полноценного бактериального сырья, качество которого во многом зависит от используемого инактиванта.

Формальдегид – высокореактивное соединение, естественный метаболит клеток тканей человека и животных [8]. Препараты формальдегида широко используются на практике в виде 0,06-0,5% раствора как инактивант при производстве антибактериальных, противовирусных и иных иммунобиологических препаратов. Особый интерес для науки и практики представляют особенности механизма этого явления в отношении бактерий и вирусов [1, 10, 12]. Однако информация по использованию формальдегида для инактивации *A. pleuropneumoniae* скудна.

Общим признанием пользуется версия о том, что основное воздействие формальдегида распространяется на полинуклеотиды и аминогруппы белка. Аминогруппы NH_2- соединяются с одной или двумя молекулами формальдегида, а NH-группы только с одной, с образованием вначале лабильных метилольных производных, а затем стабильных метиленовых соединений. Реакции формальдегида с белками и нуклеиновой кислотой приводят к образованию стабильных межмолекулярных поперечных связей между аминокислотами и основанием одной или двух нуклеиновых кислот. Этот механизм сопровождается первичными повреждениями, деспирализацией и инактивацией нуклеиновых кислот, существенными конформационными изменениями полипептидной цепи, а также стабилизацией макроструктуры биополимеров. Одновременно ингибируется токсичность и стабилизируются антигенные и иммуногенные свойства биополимеров, что лежит в основе производства иммунобиологических препаратов. Полученные препараты, как правило, безвредны, сохраняют высокую антигенность и иммуногенность и стабильны при длительном хранении [1, 3, 10, 11, 12, 13].

Существует иное обоснование механизма взаимодействия формальдегида с ДНК бактерий. По мнению авторов, деградация нуклеиновых кислот происходит под действием монометилольных производных, которые образуются в результате взаимодействия пула свободных аминокислот с формальдегидом. Образующиеся соединения модифицируют основания ДНК в деспирализованных участках бактерий с потерей аденина и деградацией нуклеиновых кислот [2, 5].

Цель работы: изучить процесс инактивации бактерий *Actinobacillus pleuropneumoniae* формальдегидом и исследовать морфологию и ультраструктуру актинобацилл как основного сырья для изготовления вакцин.

Материалы и методы

В работе использовали два гетерологичных в серовариантном отношении штамма *A. pleuropneumoniae*, полученных из Американской коллекции типовых культур (№ 27088 и № 33377) и два гетерологичных в серовариантном отношении изолята бактерий *A. pleuropneumoni-*